

DOI: 10.25205/978-5-4437-1843-9-98

**СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММА *B. SUBTILIS* IV3
С ДЕЛЕТИРОВАННЫМ ГЕНОМ БАЦИЛЛИБАКТИНА (*DHBF*)*****COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF *B. SUBTILIS* IV3 STRAIN
WITH DELETED BACILLIBACTIN GENE (*DHBF*)**

Е. Э. Ласточкина, Е. С. Волкова, Ю. А. Васильева, Н. Л. Рудакова, М. Р. Шарипова

Казанский (Приволжский) федеральный университет

E. E. Lastochkina, E. S. Volkova, I. A. Vasileva, N. L. Rudakova, M. R. Sharipova

Kazan Federal University

✉ lelya_lastochkina@bk.ru

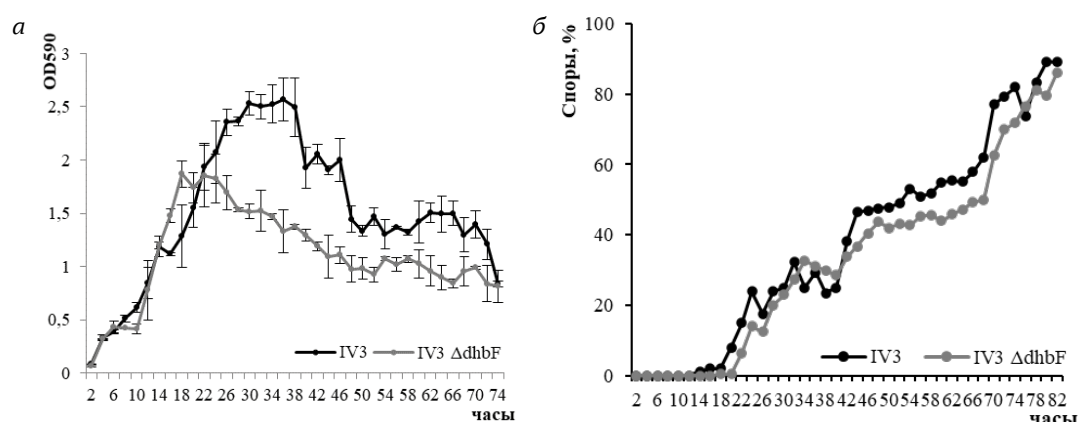
Аннотация

B. subtilis IV3 является ризосферным изолятом с фитопротекторными свойствами. Методом CRISPR/Cas9 редактирования генома получен мутант *B. subtilis* IV3 Δ dhbF с удаленным геном сидерофора бациллибактина (DhbF). Сравнительное исследование динамики роста и спорообразования двух штаммов показало, что утрата бациллибактина приводит к снижению интенсивности роста штамма, но не влияет на спорообразование.

Abstract

B. subtilis IV3 is a rhizosphere isolate with phytoprotective properties. The CRISPR/Cas9 genome editing method was used to obtain the *B. subtilis* IV3 Δ dhbF mutant with a deleted bacillibactin siderophore gene (DhbF). A comparative study of the growth dynamics and sporulation of the two strains showed that the loss of bacillibactin leads to a decrease in the growth intensity of the strain, but does not affect sporulation.

Бактерии рода *Bacillus* широко известны как эффективные фитопротекторные и стимулирующие рост растений агенты. Они играют ключевую роль в агроэкосистемах, повышая продуктивность растений и их устойчивость к стрессовым условиям. К числу важнейших механизмов их биологической активности относятся антагонизм к фитопатогенам, способность к колонизации корней, напрямую связанная с формированием биопленок, продукция фитогормонов (ИУК), а также синтез сидерофоров (железохелатирующих соединений). Бациллибактин является основным сидерофором у *B. subtilis* и играет ключевую роль в конкурентной борьбе за железо в ризосфере. Также бациллибактин обладает антибиотической активностью против ряда фитопатогенных бактерий и грибов.



Сравнительная характеристика дикого (IV3) и мутантного с делецией гена бациллибактина (IV3 Δ dhbF) штаммов *B. subtilis* IV3: а — динамика роста культуры, б — накопление свободных спор

* Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 25-16-00143).
© Е. Э. Ласточкина, Е. С. Волкова, Ю. А. Васильева, Н. Л. Рудакова, М. Р. Шарипова, 2025

Целью работы было оценить комплексный вклад бациллибактина в способность штамма *B. subtilis* IV3 стимулировать рост растений.

Геном природного изолята *B. subtilis* IV3 был полностью секвенирован и внесен в базу данных NCBI под номером ASM3859428v1. Методом CRISPR/Cas9 редактирования генома был получен мутант *B. subtilis* IV3 Δ *dhbF* с удаленным ключевым геном биосинтеза бациллибактина *dhbF*. Для обоих штаммов была исследована динамика роста и спорообразования на жидкой среде LB при 37 °C с аэрацией в течении 80 ч. Пробы отбирались через каждые 2 ч. Рост культуры контролировали по изменению оптической плотности (OD590). Количество свободных спор оценивали микропипированием с окрашиванием по методу Шефера — Фултона.

Сравнение динамики роста исследуемых штаммов показало статистически значимое снижение роста мутантного штамма (более 30 %) по сравнению с диким типом (см. рисунок).

До 20-го часа кривые роста обоих штаммов не различаются, далее мутантный штамм переходит к стационарной фазе, а дикий тип продолжает набор биомассы с замедлением роста после 30-го часа (см. рисунок, а). При этом к 72-му часу роста снижение оптической плотности культуры относительно собственного максимума для дикого типа составляет 43 %, в то время как для мутанта 31 %. Таким образом, с потерей гена бациллибактина штамм медленнее набирает биомассу, быстрее выходит на стационар и медленнее отмирает. При этом удаление гена *dhbF* не оказало значимого влияния на спорообразование (см. рисунок, б). Возможно, ген бациллибактина вовлечен в адаптационные механизмы штамма, но не является критически значимым для смены стратегии при переходе к спорообразованию.